編號：CCMP86-RD-026

甘麥大棗湯對大鼠抗焦慮作用之研究

Studies on the anxiolytic effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang in rodents

謝　明　村

中國醫藥學院　中國藥學研究所

摘　要

甘麥大棗湯為中醫臨床上常用於治療臟燥之方劑，首載於《金匱要略・婦人雜病脈症并論》，由炙甘草、浮小麥及大棗等三味藥所組成，主治「婦人臟燥。症見精神恍惚，悲傷欲哭，不能自主，呵欠頻發或失眠盜汗」；現今藥理學研究證實具鎮靜及抗痙攣作用。本研究擬採雙向主動迴避式反應（Two-way active avoidance）、黑白室（Black and white chambers）及上升性十字型迷宮（Elevated plus-maze）之焦慮模式，來探討甘麥大棗湯之藥效，並以diazepam、buspirone為正對照組。

甘麥大棗湯於0.3～1.0 g/kg劑量下，可減少大白鼠在雙向主動迴避反應之非條件反應次數及誤動作次數，而對條件反應次數則不影響；另可增加小白鼠於黑白室模式下在白室之滯留時間，並減少在黑室之滯留時間；最後，於上升型十字形迷宮下，可增加小白鼠在開放臂之滯留時間百分率、開放臂進入次數百分率及減少小白鼠在封閉臂之滯留時間百分率，但對封閉臂之進入次數則不影響。另由運動活性及電痛閾值之測定，甘麥大棗湯於實驗劑量下並不具鎮痛活性，但在1.0 g/kg劑量下具降低運動量之作用。由上述結果顯示，甘麥大棗湯於0.3 g/kg具抗焦慮之活性，且與鎮痛、鎮靜之活性無關，其作用型態與buspirone相似；而在1.0 g/kg劑量下，其作用型態與diazepam相似。

在黑白室焦慮實驗模式，甘麥大棗湯可增強低劑量 5-HTP 及合成抑制劑 PCPA 之作用，抑制高劑量 5-HTP 之作用；亦可增強 buspirone 及 ritanserin 之作用。而在甘麥大棗湯進一步之生化研究，在 0.3 g/kg 時可增加腦幹內 5-HIAA 之濃度，並減少 5-HT 之濃度。

綜合上述結果，甘麥大棗湯於小劑量（0.3 g/kg）下具抗焦慮作用，

其作用機轉與增加腦內 5-HT 之 turnover rate 有關。

關鍵詞：甘麥大棗湯，雙向主動迴避反應，黑白兩室，上升性十字型迷宮，Diazepam，Buspirone

ABSTRACT

Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (abbreviate as Km) is a most common Chinese prescriptions used to cure insomnia and mania by traditional physicians. It firstly was described in "Chin-K'uei-Yao-Lueh" and composed of Glycyrrhiza Rhizoma, Triticum Seed and Zizyphus Fruit. In the modern pharmacological studies, Km has sedative and anticovulsive effects. Therefore, we attempt to investigate the anxiolytic effects of Km by means of two-way active avoidance, black and white chambers and elevated plus-maze, and use diazepam and buspirone as positive controls.

Km (0.3-1.0 g/kg) could decrease response counts of unconditioned stimulus and intertrial crossing in two-way active avoidance task, increase the time spent on the black chamber and decrease the time spent on the white chamber in the black/white box test. Finally, Km could increase the percentage of the time spent on the open arm and the entries of open arm, but decrease the percentage of the time spent on the close arm in the elevated plus-maze. Furthermore, Km at any dosage didn’t have analgesic effect, but at 1.0 g/kg could decrease the horizontal activity (sedative effect). So, the anxiolytic effects of Km at 0.3 g/kg could be not related to analgesic and sedative effect, and it effects are similar to those of buspirone. Then, the effects of Km at 1.0 g/kg could be similar to those of diazepm.

Km could enhance the effects of low dosage (5 mg/kg) 5-HTP, PCPA, *-OH-DPAT and ritanserin, and attenuate the effect of high dosage (50 mg/kg) 5-HTP in the black/white box test. Furthermore, in the biochemical measurement, Km at 0.3 g/kg could decrease monoamines levels and increase its metabolites levels in the brainstem.

From these results, the anxiolytic effects of Km at 0.3 g/kg might be due to the increase of the turnover rate of 5-HT in brainstem.

Key words: Kan-Mai-Ta-Taso-Tang, two-way active avoidance, black and white chambers, elevated plus-maze, diazepam, buspirone

壹、前言

現今之社會已由農業社會逐次轉型為工業社會，科技日異千里，因此人們的生活腳步也日益加快；而在這追趕時勢的潮流中，人們彼此關愛的心日益薄弱，社會缺少了溫情，人們在冰冷擁擠的生活環境下，使得精神疾病患者日益增加，尤其是焦慮不安的患者，這已是社會國家及醫療上急需面對的一個重要問題；因此在精神疾病患者的治療及解決之道，除改善目前惡劣的生活品質外，醫藥的開發亦是一條不容忽視的路。

焦慮係人類對外在環境一種煩燥不安的行為情緒表現模式，一般認為係中樞神經系統對外在刺激所引起的一連串神經的變化，最終導致末稍心血管系統及運動神經的改變；而在中樞最初之管制情緒焦慮變化之區域為orbitofrontal cortex（又稱為limbic frontal lobe），主要負責將limbic system之情緒管制區訊息傳送至prefrontal cortex之計劃區；而在orbitofrontal cortex接受cortex之統合訊息後，便傳送至amygdala，amygdala一般被稱為害怕焦慮中樞（fear-anxiety center），由它管制一切對外之情緒變化，而主要之神經管制區為basolateral amygdala，再分經由下視丘之HACER區及medial區，管制末稍交感神經及運動神經，而引起心血管系統及外在反應之變化[1]。而在神經傳遞物質之關係，早期均認為中樞benzodiazepine所扮演之角色極為重要；但在近期之研究中，benzodiazepine所扮演之角色則頗受質疑，今均認為benzodiazepine係經由控制下游（downstream）之神經傳遞物質而產生管制情緒之作用，在benzodiazepine治療焦慮方面，發現amygdala區之serotonin神經活性降低，因此在下游之神經傳遞物質中，咸認為serotonin最為重要；另在5-HT agonist之系列研究中，指出buspirone之抗焦慮作用係經由raphe之5-HT_{1A} autoreceptors，導致serotonergic activity降低，而非經由benzodiazepine receptors[2-3]。因此焦慮症之整體中樞管制機轉，便在於中樞limbic system中之amygdala區serotonin之直接不正常變化所引起，而benzodiazepine則是間接調節amygdala區serotonin之活性而致。

現今臨床使用之抗焦慮藥物，大致可分成兩大類：Benzodiazepine類與non-benzodiazepine類[4]；Benzodiazepine類為現今臨床最常用之抗焦慮藥物，而在臨床尚具抗痙攣、鎮靜安眠及降低肌肉張力、治療癲癇等作用，

雖在運用上頗具療效，但卻有甚多副作用，最主要者係在治療劑量下，常伴隨鎮靜之作用，導致嗜睡、紊亂及運動功能失調等中樞抑制之副作用。其次在non-benzodiazepine類，又可分成兩小類：barbiturates類及5-HT agonists類兩類；Barbiturates類之作用與benzodiazepine類相近，但副作用則較benzodiazepine類多且嚴重，除導致鎮靜、嗜睡、紊亂及運動功能失調等中樞神經抑制作用外，對於肝臟代謝　，特別是cytochrome p-450系統則有誘發作用。而5-HT agonists特別是$5\text{-}HT_{1A}$ agonists，如buspirone，為最近較受注意及發展之抗焦慮藥，因無benzodiazepine類中樞抑制之副作用，使用上較無危險，但仍有一些其它的副作用，如噁心、嘔吐、嗜睡及頭痛之副作用。綜觀現今臨床使用之一般抗焦慮藥物，其副作用及毒性仍大，且在治療焦慮症之劑量及鎮靜安眠之劑量上並無明顯之界限；雖有最近發展之5-HT agonists，但尋找更具療效而毒性更低、治療指數較大之藥物仍是值得探索的方向。而中醫在精神疾病之治療上，亦有重多文獻之記載及藥物方劑之治療，在中醫藥典籍常有諸多『臟燥』、『郁病』之記載，而『臟燥』、『郁病』等疾病即今之精神疾病，其間便記載眾多之治療方劑，值得我們去探索研究與開發，以切乎今臨床之所需。

甘麥大棗湯為我國傳統常用於治療臟燥之方劑，首載於《金匱要略・婦人雜病脈症并論》，方由炙甘草、浮小麥及大棗等三味藥所組成[5]，其中以養心安神之浮小麥為君藥，炙甘草及大棗等和中補中藥物為佐使藥[6]；按中醫理論，心氣不足，則煩燥而不安，故主治「婦人臟燥。症見精神恍惚，悲傷欲哭，不能自主，呵欠頻發或失眠盜汗」[5]。現代臨床多用於神經過度興奮之精神疾病、婦人絕經期之綜合症或抑鬱症等[7-8]；而現今之藥理學研究已證實甘麥大棗湯具鎮靜及抗痙攣作用，另有抗疲勞及耐缺氧作用，並具雌激素樣作用[9-10]；比較現今之抗焦慮藥物如benzodiazepines類藥物，均具鎮靜、抗痙攣及抗焦慮之作用；甘麥大棗湯已證實具鎮靜及抗痙攣作用；因此，更值得我們進一步來探討甘麥大棗湯除鎮靜及抗痙攣作用外，是否有抗焦慮之作用。本研究擬採雙向主動迴避式反應（Two-way active avoidance）、黑白室（Black and white chambers）及上升性十字型迷宮（Elevated plus-maze）之焦慮模式，來探討甘麥大棗湯之抗焦慮作用；並輔以大鼠自發運動量測定儀及電疼痛實驗，來測定大鼠之自發運動量及電痛閾值，以評估甘麥大棗湯之鎮靜作用及鎮靜與抗焦慮間之劑量關係；其次再輔以大鼠電疼痛實驗，來測定大鼠之電痛閾值，以評估甘麥大棗湯

是否具鎮痛作用，並以釐清鎮痛對甘麥大棗湯抗焦慮作用之影響。最後，因抗焦慮藥物與中樞神經系統傳遞物質如serotonin等相關，故併用影響中樞神經系統傳遞物質之藥物，來探討甘麥大棗湯抗焦慮作用之可能機轉；並以現今臨床常用的抗焦慮藥物diazepam及buspirone為正對照組，以評估其治療效價。

貳、材料與方法

一、實驗藥材之製備

本實驗所用之甘麥大棗湯藥材，其基原如下：

（1）炙甘草：為豆科植物甘草（*Glycyrrhiza uralensis* Fischer et DC.）的乾燥根莖。

（2）浮小麥：為禾本科植物小麥（*Triticum aestivum* L.）的乾燥微萌芽種子。

（3）大　棗：為鼠李科植物大棗（*Zizyphus jujuba* Miller）的乾燥果實。

本研究依照中醫方劑組成比例：浮小麥、炙甘草及大棗，比例依序為10：3：2。將上述之實驗藥材以水浸潤之，後在50℃下迴流抽取4～5次，每次約4小時，合併抽取液，經減壓濃縮乾燥後，即得粗萃取物（抽取率13.6%）。

二、實驗動物

本研究所使用之動物

Sprague-Dawley系雌性大白鼠，體重220～250公克（雙向主動迴避式反應、自發運動量及電痛閾值實驗用）。ICR雌性小白鼠，體重20～25公克（急性毒性、黑白室及上升性十字型迷宮實驗用）。

三、實驗方法

1、急性毒性試驗

將甘麥大棗湯萃取物分別經由口服投藥給與小白鼠，連續觀察72小時，記錄中毒死亡情形，依Litchfield and Wilcoxon 氏方法[11]，求得使實驗動物一半死亡的劑量及其95%可信限。

2、抗焦慮實驗

（1）對雙向主動迴避反應（Two-way active avoidance）誘發焦慮之影響

本實驗儀器是使用Automatic Reflex Conditioner 7530（UGO BASILE）裝置，實驗時間從上午八點至晚上八點，將甘麥大棗湯萃取物以不同劑量（0.03、0.3、1.0 g/kg，p.o.）口服給予大白鼠，於給藥30分鐘後，將大鼠放入實驗箱中，適應10分鐘，接著連續測驗40次，每次先給10秒鐘的光及聲音（光2000赫茲，聲音70分貝）後電擊（1 mA）30秒，每次測驗間隔（trial interval）30 秒，記錄其avoidance之次數，在聲光及電刺激誘發焦慮之模式下，大白鼠之迴避次數會明顯增加，而抗焦慮藥物則可減少大白鼠之迴避次數[12]。本實驗以diazepam（0.1 mg/kg，i.p.），buspirone（0.1 mg/kg，i.p.）作正對照，於給藥20分鐘後進行試驗。

（2）對黑白室（Black and white chambers）誘發焦慮之影響

黑白室測定已用於嚙齒類動物焦慮狀態的測定，此儀器不須實驗者親自觀察，為全自動化儀器，數據的取得較為容易且較為可靠[13]。此儀器由大小不同的二實驗箱所組成，一個實驗箱塗成白色（27X27 cm），另一個塗成黑色（27X18 cm），兩實驗箱間由47cm高的壁隔開，此壁底部有一開口（7X7 cm），每實驗箱底部均有其相同大小及顏色的可移動地板，地板上用線畫出9X9cm格子。每實驗箱各有其獨立照明，白室用100 W白光燈泡（燈光強度4400 lux），黑室用40 W紅光燈泡，兩燈泡離地板37 cm高。每隻動物測試5分鐘，並於每隻動物測試完後將地板擦拭乾淨，實驗從下午二點至下午五點。

甘麥大棗湯粗萃取物以不同劑量（0.03、0.3、1.0 g/kg，p.o.）經口服給與小鼠 40 分鐘後，再將小鼠至於白室中央，小鼠頭部面向黑室，記錄小鼠停留在每一室的總時間[13]。本實驗以 diazepam (0.1、0.5 mg/kg，i.p.) 及 buspirone（0.1 mg/kg，i.p.）作正對照，於給藥 30 分鐘後進行試驗。

（3）對上升性十字型迷宮（Elevated plus-maze）誘發焦慮之影響

本實驗儀器是使用Elevated plus-maze，儀器由兩個開放臂（30×5 cm）及兩個封閉臂（30×5×15 cm），中以開放之正方形plus（5×5 cm）連接；實驗時間從上午八點至下午五點。將甘麥大棗湯萃取物以不同劑量（0.03、0.3、1.0 g/kg，p.o.）口服給予小鼠，於給藥40分鐘後，將小白鼠

放入正方形plus中，連續測定5分鐘，以進入開放臂及封閉臂之次數及滯留開放臂及封閉臂之時間為評估標準[14]；運用小白鼠初入實驗箱，在雙臂探索期於開放臂因小白鼠害怕所誘發之焦慮（焦慮評估：小白鼠之走動時間少、進入雙臂次數少、進入開放臂次數少、滯留於封閉臂之時間多），抗焦慮藥物應對於小白鼠之走動時間增加、進入雙臂次數增加、進入開放臂之次數增加、滯留於開放臂之時間增加。本實驗以diazepam（0.5 mg/kg，i.p.），buspirone（0.1 mg/kg，i.p.）作正對照，於給藥30分鐘後進行試驗。

（4）併用影響中樞神經傳遞物質之藥物：探討甘麥大棗湯抗焦慮作用與中樞serotonergic system之關係

甘麥大棗湯萃取物（0.3 g/kg）40分鐘前口服給予，再與影響中樞神經傳遞物質serotonergic system之藥物分別併用，依前法（方法(2)），進行實驗：併用藥物如下：serotonin precusor--5-HTP（5、50 mg/kg，i.p.）30分鐘前給予[15]；serotonin synthesis inhibitor--*p*-Chlorophenylalanine（200 mg/kg， i.p.）24小時前給予[15]；5-HT_{1A} receptor agonist–8-OH-DPAT（0.1 mg/kg，i.p.）30分鐘前給予[16]；5-HT_2 receptor antagonist--Ritanserin（0.01 mg/kg， i.p.）30分鐘前給予[17]。

3、對大白鼠電痛閾值之影響

將大白鼠置於「條件反應測定裝置」之儀器中，依序以列之電流（0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mA）進行2秒鐘電刺激，並以15秒鐘依序提昇電流強度[18]，經口服給予大鼠不同劑量（0.03、0.3、1.0 g/kg，p.o.）之粗抽物後40分鐘，將大鼠置於儀器中，記錄大白鼠跳躍或叫聲時之電流強度。每組10隻。對照組給予vehicle。因雙向主動迴避式反應須以電刺激誘發大白鼠焦慮，故輔以大白鼠電疼痛實驗，測定大白鼠電痛閾值，評估甘麥大棗湯鎮痛作用，以釐清甘麥大棗湯鎮痛作用與抗焦慮作用關係。

4、對小白鼠自發運動量之影響

運動量之測定是使用「動物運動量測定裝置」（1-Opto-Varimex-3 Animal Activity Meter，USA），記錄小白鼠經口服給予不同劑量（0.03、0.3、1.0 g/kg，p.o.）之甘麥大棗湯萃取物後之各種活動行為的變化（包括垂直、水平走動，站立，及移動總距離等）。使用小白鼠，每組6隻。於口

服給藥35分鐘後放入此裝置內適應5分鐘，再開始記錄，觀察並連續記錄1小時[19]。對照組均給予vehicle。因在黑白室及十字型迷宮中須以考慮小白鼠之運動量及藥物之鎮靜作用，故需輔以小白鼠自發運動量測定儀，測定小白鼠之自發運動量，評估甘麥大棗湯鎮靜作用，以釐清甘麥大棗湯之鎮靜作用與抗焦慮間之劑量關係。

5、對小白鼠腦內單胺及其代謝物濃度之影響

甘麥大棗湯萃取物口服給予小白鼠，一小時後，將小白鼠斷頭，取出全腦，將此腦組織置於碎冰中保持冷凍。依Salafskg之方法，在5ml 0.01N HCl與500 μl 0.1M EDTA下以均質機研勻之，加入4 g NaCl，並以12 ml n-butanol抽取，經振盪離心後，取得*n*-butanol層，再加入17 ml *n*-heptan與400 μl 0.025N HCl酸性溶液振盪之，則單胺移入酸性水溶液層。上述餘留*n*-heptane層續以200 μl 0.2M tris-Hcl鹼性緩衝溶液（pH8.5）振盪抽取並離心，可得單胺代謝物[20]。分離所得腦內單胺（NE，DA，5-HT）及其代謝物（HVA，VMA，5-HIAA）濃度，以外標準法測定之。使用高速液態層析儀（HPLC model 440，Solvent Delivery system M45）（Waters Associates）及檢出器（Electrochemical Detectors LC-4B）（Bioanalytical system Inc.)測定之。分離所用Column為Lichrospher 100(RP-18 endcapped，4 mm×125 mm）（E.Merck 50734），移動相為加有PIC B7（Waters Associates）之methanol/water，其流速為2.0 ml/min。分離溶出物面積係使用Data module M730型記錄之。

6、統計學分析

本實驗所得之數據，大鼠自發運動量、電痛閾值，以one-way ANOVA分析其變異數，再以Scheffe′s multiple range test檢定，統計並分析其間差異之顯著性，凡 P值小於0.05以下時，則蓋為有統計意義。而於雙向主動迴避式反應實驗、黑白室及上升性十字型迷宮，則以non-parameter統計，並以Kruskal-Wallis單因子變異數分析檢定其間差異之顯著性，凡 P值小於0.05以下時，則認為有統計意義。

參、結果

一、對雙向主動迴避反應（Two-way active avoidance）誘發焦慮之影響

如 Fig. 1-3，甘麥大棗湯（0.03～1.0 g/kg）對小白鼠在雙向主動迴避反應模式下，可減少非條件刺激反應之次數及試驗間之誤動作次數，但對條件刺激反應之次數不影響。而正對照組 diazepam（0.1 mg/kg）及 buspirone（0.1 mg/kg）之作用亦同。

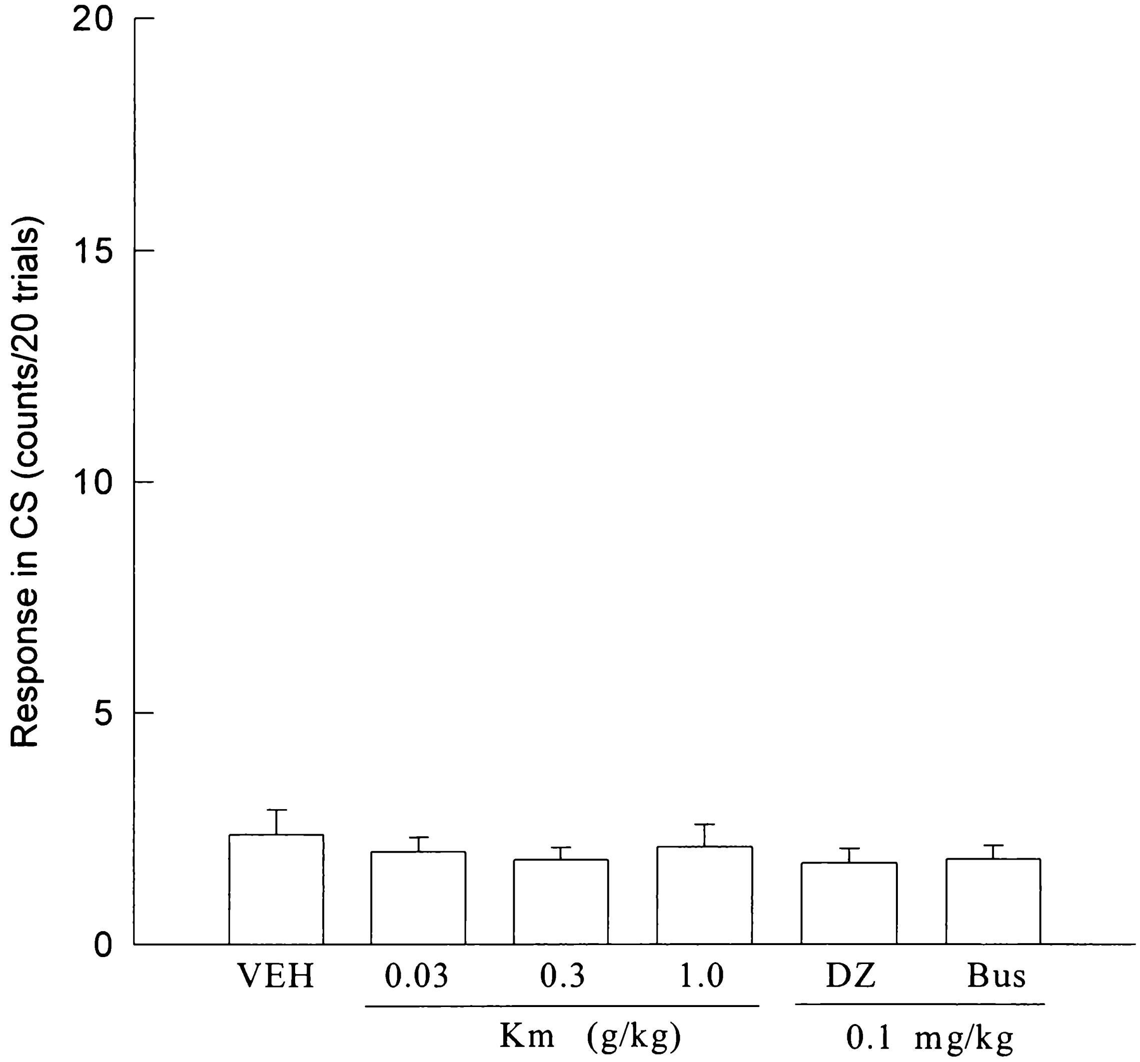

Fig. 1. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km), diazepam (Dz) and buspirone (Bus) on the response of conditioned stimulus (CS) in the two-way active avoidance task during a 20-trial test. Scores are means±SEM.

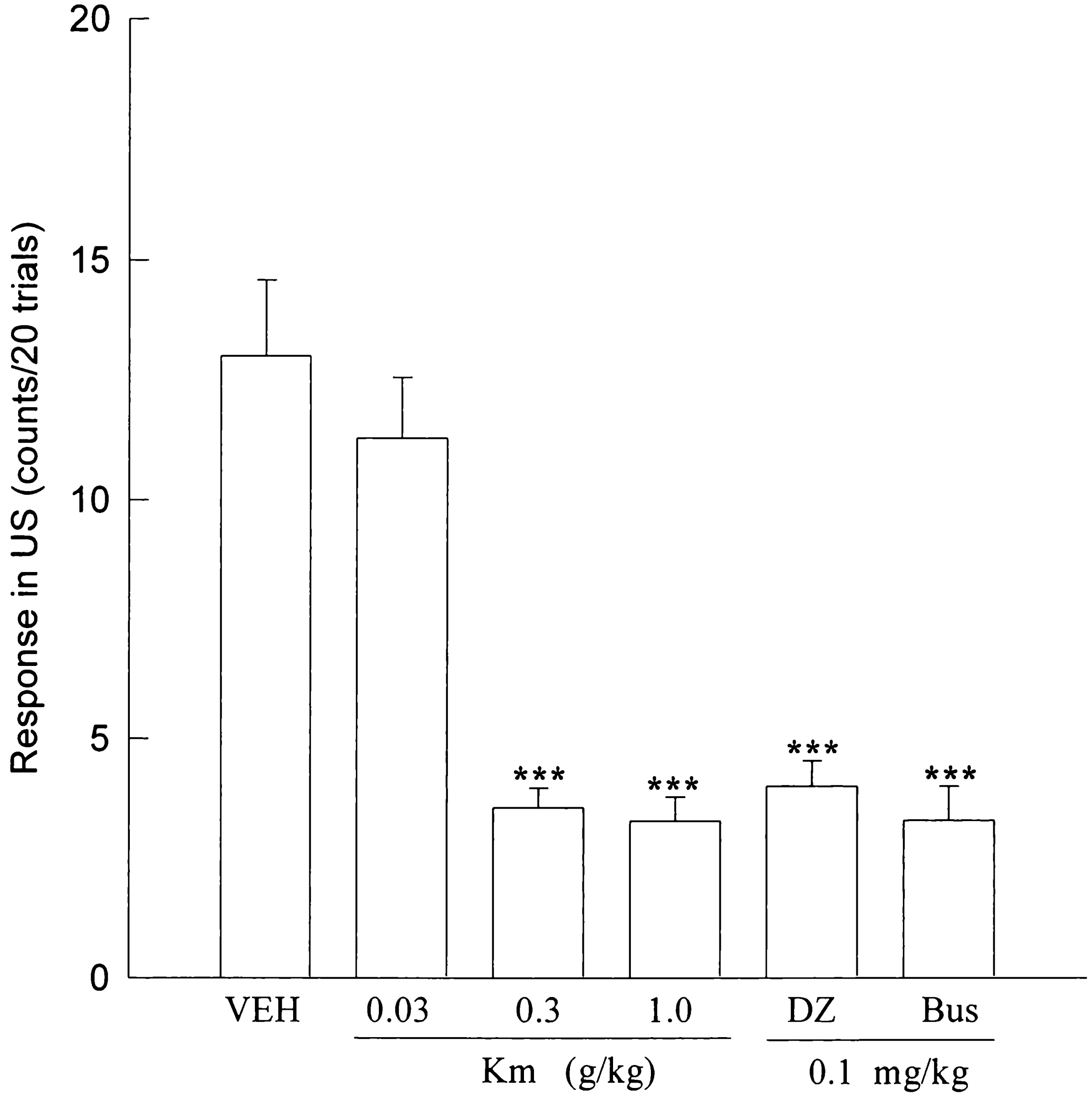

Fig. 2. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km), diazepam (Dz) and buspirone (Bus) on the response of unconditioned stimulus (US) in the two-way active avoidance task during a 20-trial test. Scores are means±SEM. *** P < 0.001, significantly different from animals treated with vehicle (VEH). (Mann-Whitney *U* test)

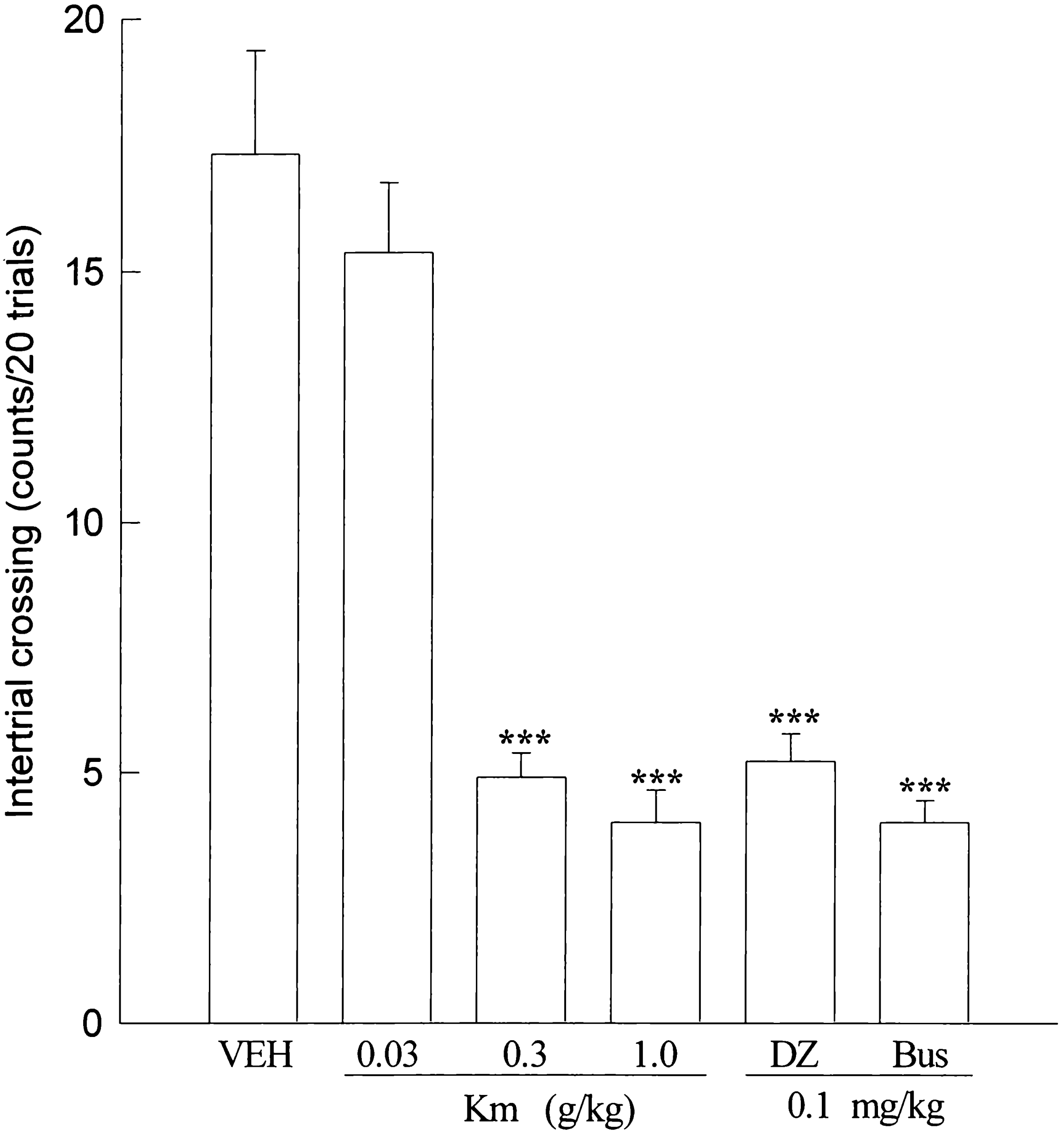

Fig. 3. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km), diazepam (Dz) and buspirone (Bus) on the intertrial crossing in the two-way active avoidance task during a 20-trial test. Scores are means±SEM.*** P < 0.001, significantly different from animals treated with vehicle (VEH). (Mann-Whitney *U* test)

二、對黑白室（Black and white chambers）誘發焦慮之影響

如 Fig. 4，甘麥大棗湯（0.03～1.0 g/kg）於 0.3～1.0 g/kg 之劑量時，對小白鼠在黑白室誘發焦慮之模式下，可減少小白鼠在黑室之滯留時間及增加小白鼠在白室之滯留時間。而正對照組 diazepam（0.1、0.5 mg/kg）及 buspirone（0.1 mg/kg）之作用亦同。

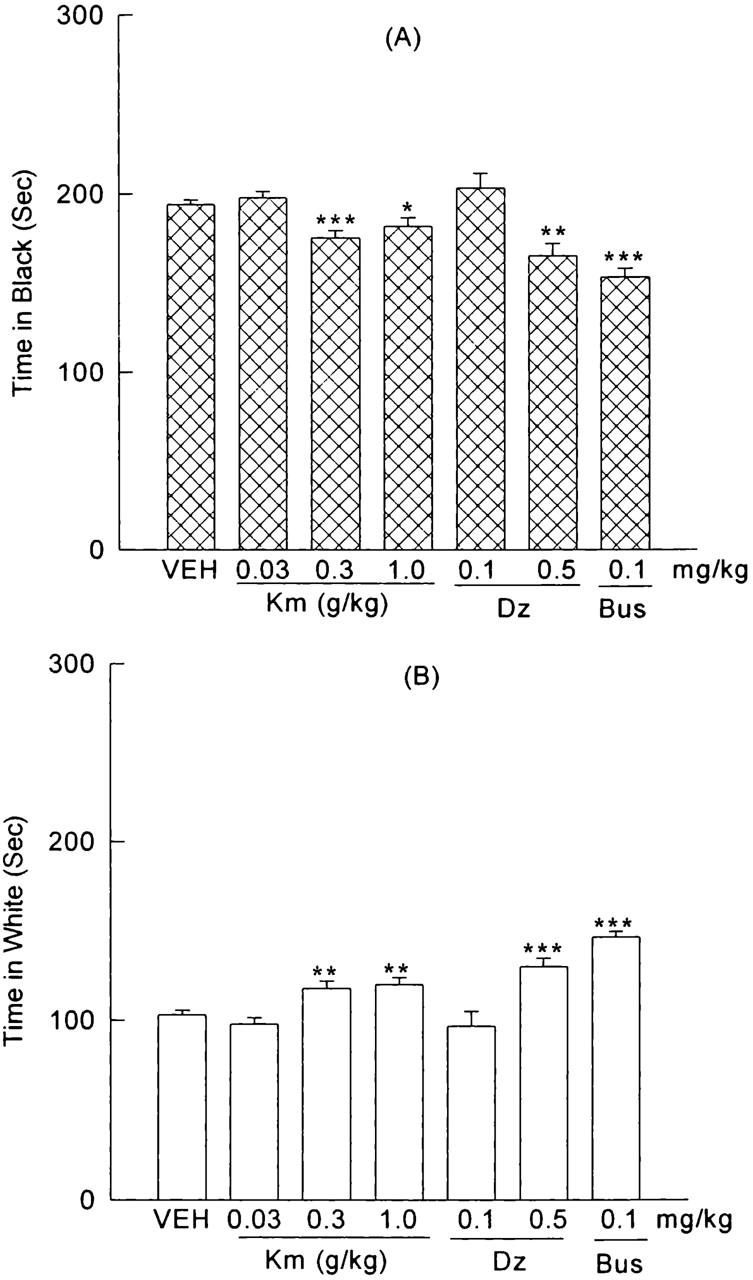

Fig. 4. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km), diazepam (Dz) and buspirone (Bus) in the black and white chambers during a 5-min test. (A) time spent on the black chamber, (B) time spent on the white chamber. Scores are means±SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from animals treated with vehicle (VEH). (Mann-Whitney *U* test)

三、對上升性十字型迷宮（Elevated plus-maze）誘發焦慮之影響

如 Fig. 5-8，甘麥大棗湯（0.03～1.0 g/kg）於 0.3～1.0 g/kg 之劑量時，對小白鼠在上升性十字型迷宮誘發焦慮之模式下，可減少小白鼠在封閉臂滯留時間之百分率及增加小白鼠在開放臂滯留時間之百分率，但對小白鼠進入封閉臂或開放臂次數之百分率則不影響。而正對照組 buspirone（0.1 mg/kg）之作用亦同。但 diazepam（0.5 mg/kg）則可減少小白鼠在封閉臂滯留時間及進入封閉臂次數之百分率，並增加小白鼠在開放臂滯留時間及進入開放臂次數之百分率。

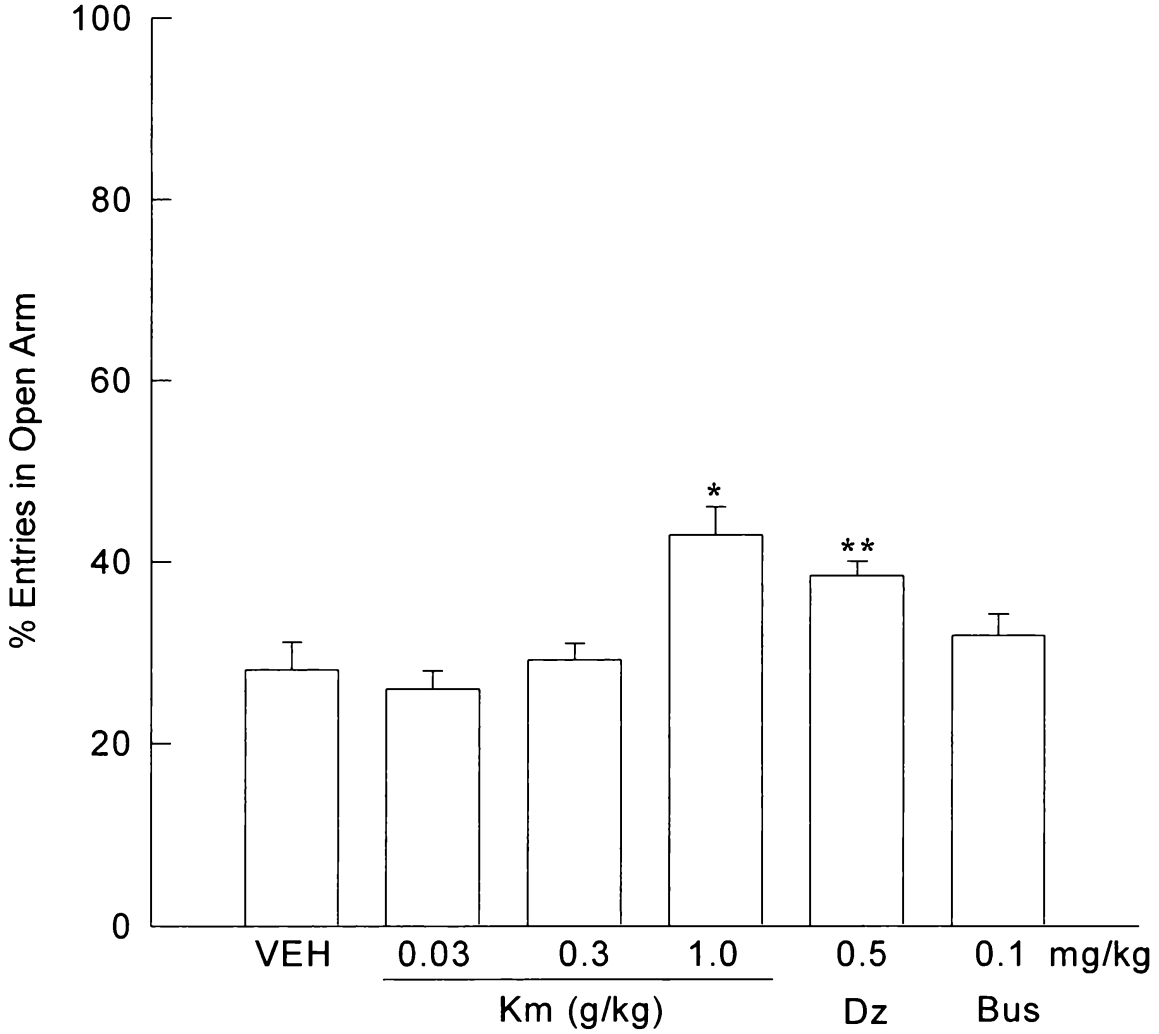

Fig. 5. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km), diazepam (Dz) and buspirone (Bus) on the percentage of entries made into the open arms of a plus-maze during a 5-min test. Scores are means±SEM. * $P < 0.05$, significantly different from animals treated with vehicle (VEH).

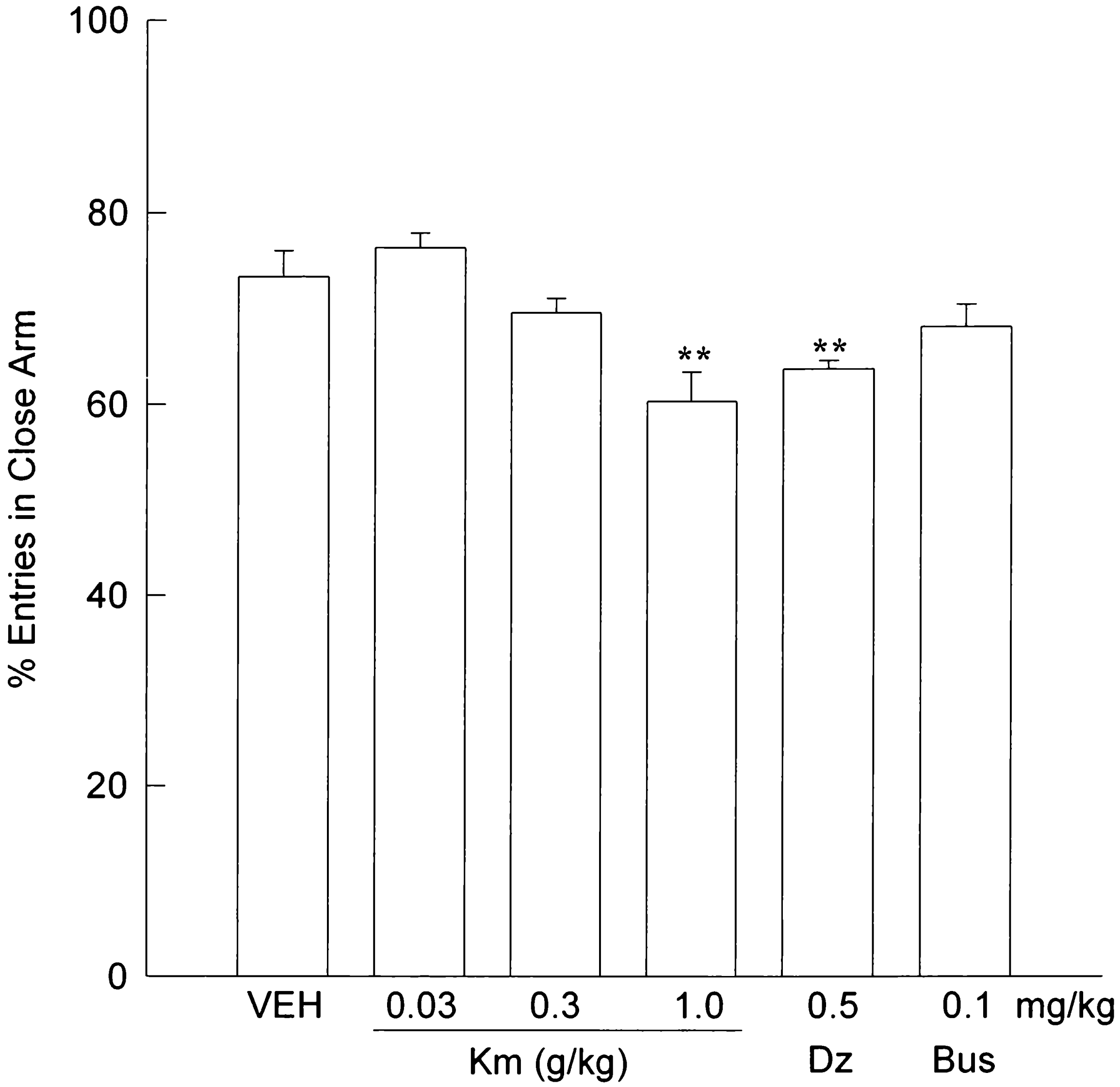

Fig. 6. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km), diazepam (Dz) and buspirone (Bus) on the percentage of entries made into the close arms of a plus-maze during a 5-min test. Scores are means±SEM. * P < 0.05, significantly different from animals treated with vehicle (VEH).

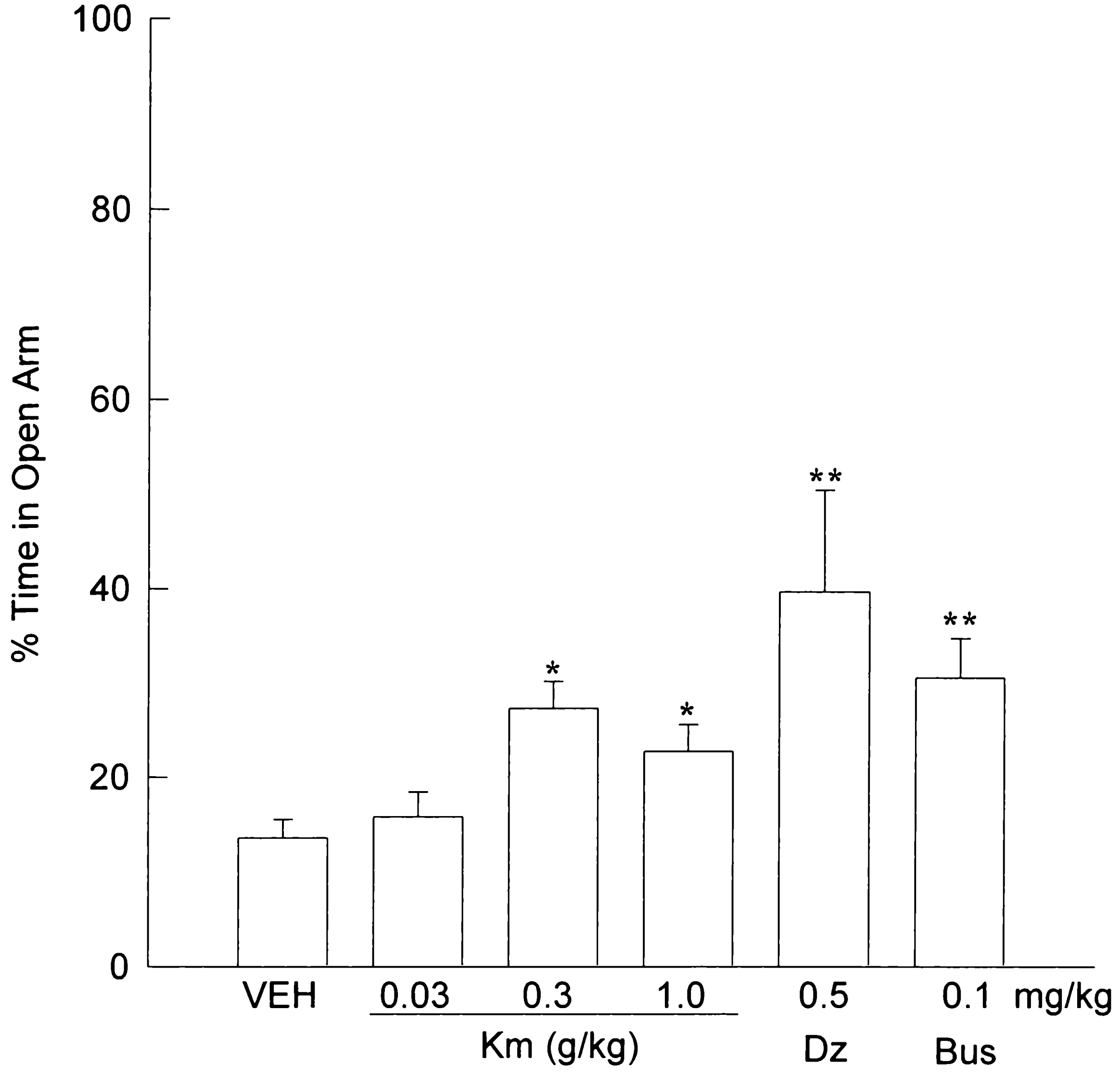

Fig. 7. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km), diazepam (Dz) and buspirone (Bus) on the percentage of time spent on the open arms of a plus-maze during a 5-min test. Scores are means±SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from animals treated with vehicle (VEH).

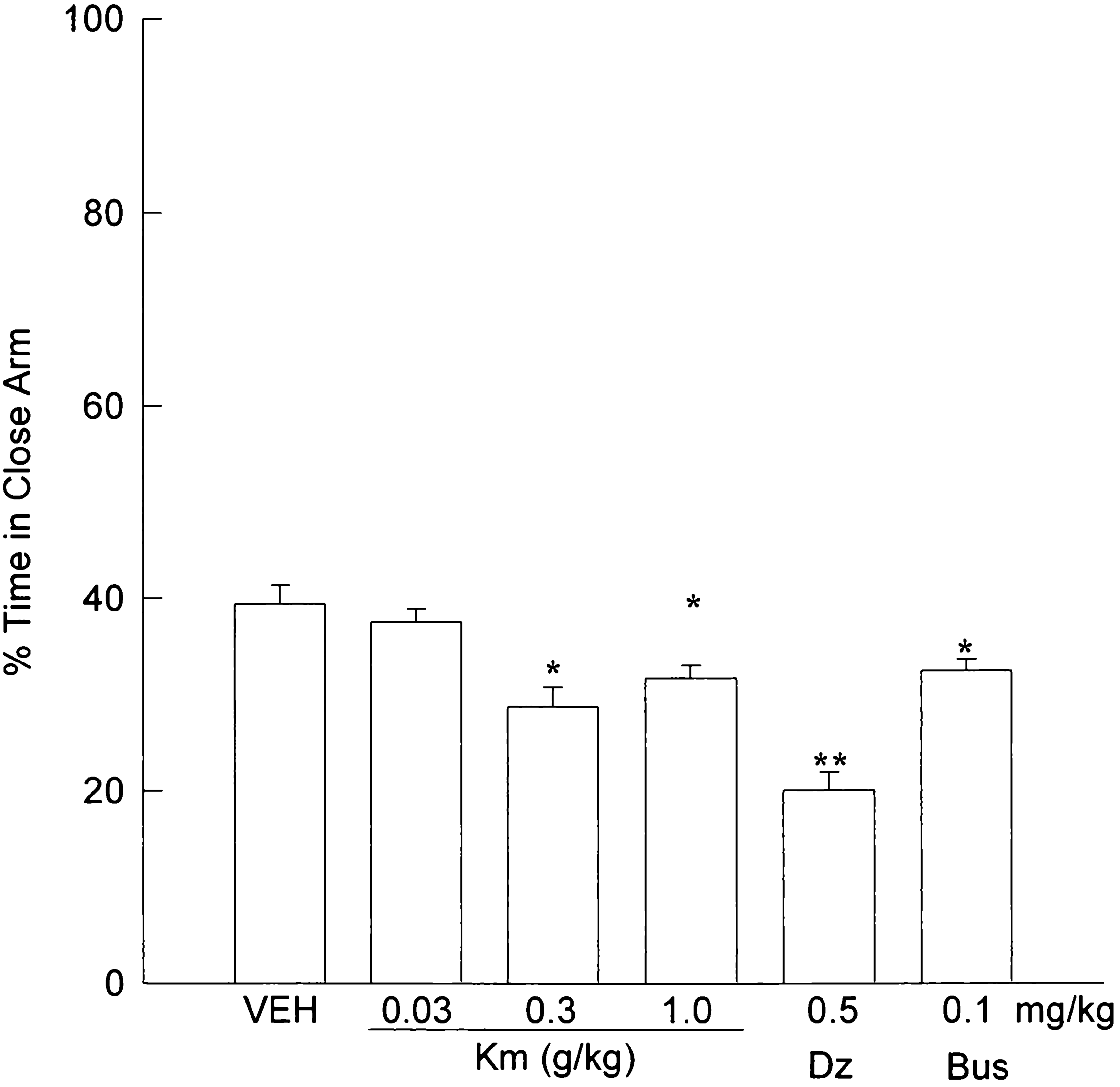

Fig. 8. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km), diazepam (Dz) and buspirone (Bus) on the percentage of time spent on the close arms of a plus-maze during a 5-min test. Scores are means±SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from animals treated with vehicle (VEH).

四、對大白鼠電痛閾值之影響

如表 1，甘麥大棗湯（0.3～1.0 g/kg）均不影響大白鼠之電痛閾值。

Table 1. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km) on the electric foot-shock in rats.

Drug	Dose (g/kg)	Threshold (mA)	
		Flinch	Jump / Vocalization
VEH		0.74±0.01	0.91±0.03
Km	0.03	0.72±0.03	0.89±0.02
Km	0.3	0.69±0.02	0.90±0.03
Km	1.0	0.74±0.02	0.87±0.01

The results are expressed as mean±S.E.M for 8 rats each group.

五、對小白鼠自發運動量之影響

如 Fig. 9，甘麥大棗湯於 0.3 g/kg 之劑量下，並不影響小白鼠之水平運動量；但在 1.0～2.0 g/kg 之劑量下，則可減少小白鼠之水平運動量（$P < 0.05$、$P < 0.001$）。

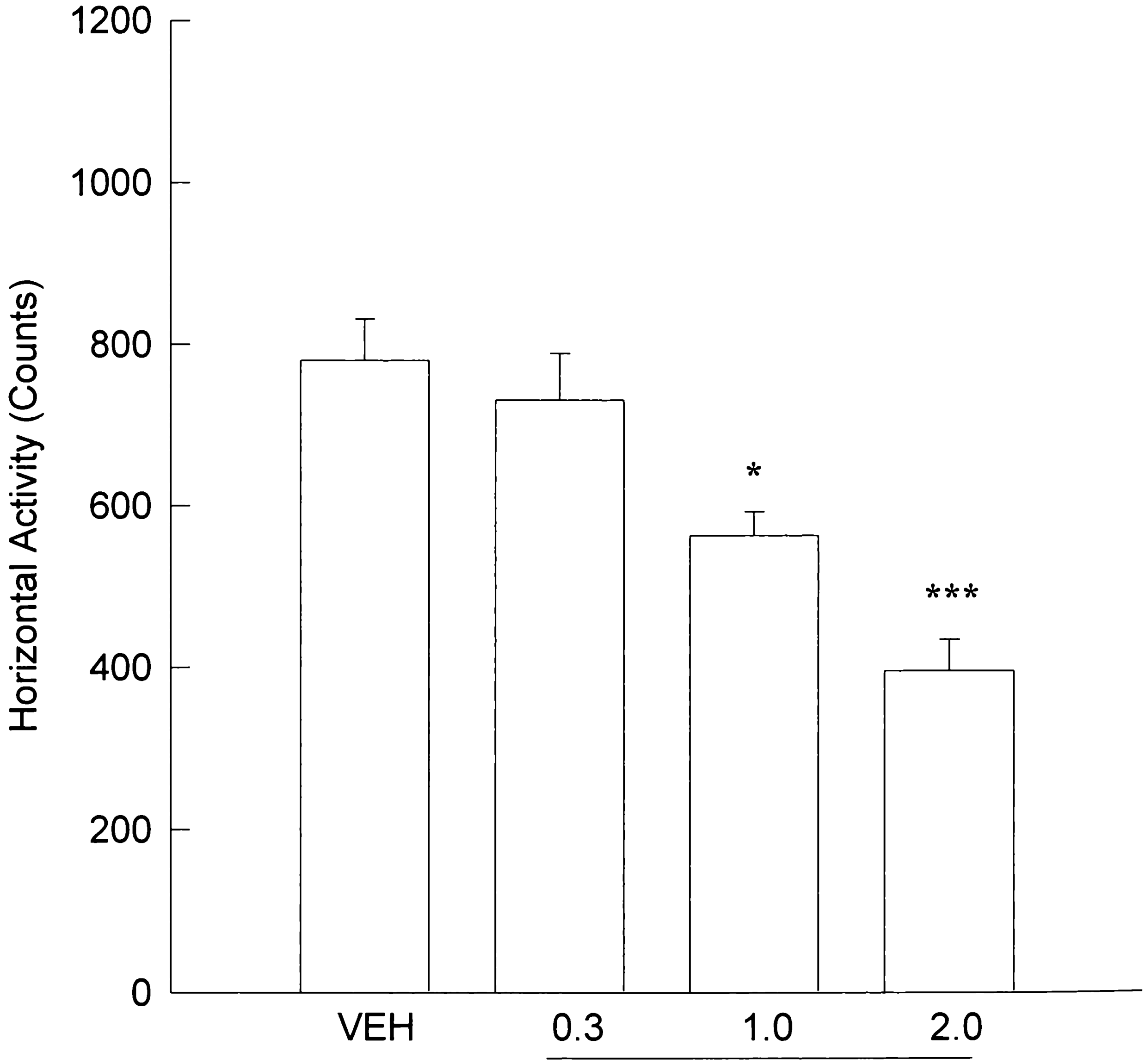

Fig. 9. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km) in the horizontal locomotion of photocell activity cages during a 1-hr test. Scores are means±SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from animals treated with vehicle (VEH).

六、併用影響中樞神經傳遞物質之藥物：探討甘麥大棗湯抗焦慮作用與中樞serotonergic system之關係

如 Fig. 10，甘麥大棗湯於 0.3 g/kg 劑量時，可減少小白鼠在黑室之滯留時間及增加小白鼠在白室之滯留時間；而 5-HT 之合成先驅物 5-HTP 於 5 mg/kg 劑量下並不影響小白鼠在黑室之滯留時間及白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短黑室之滯留時間及延長白室之滯留時間。

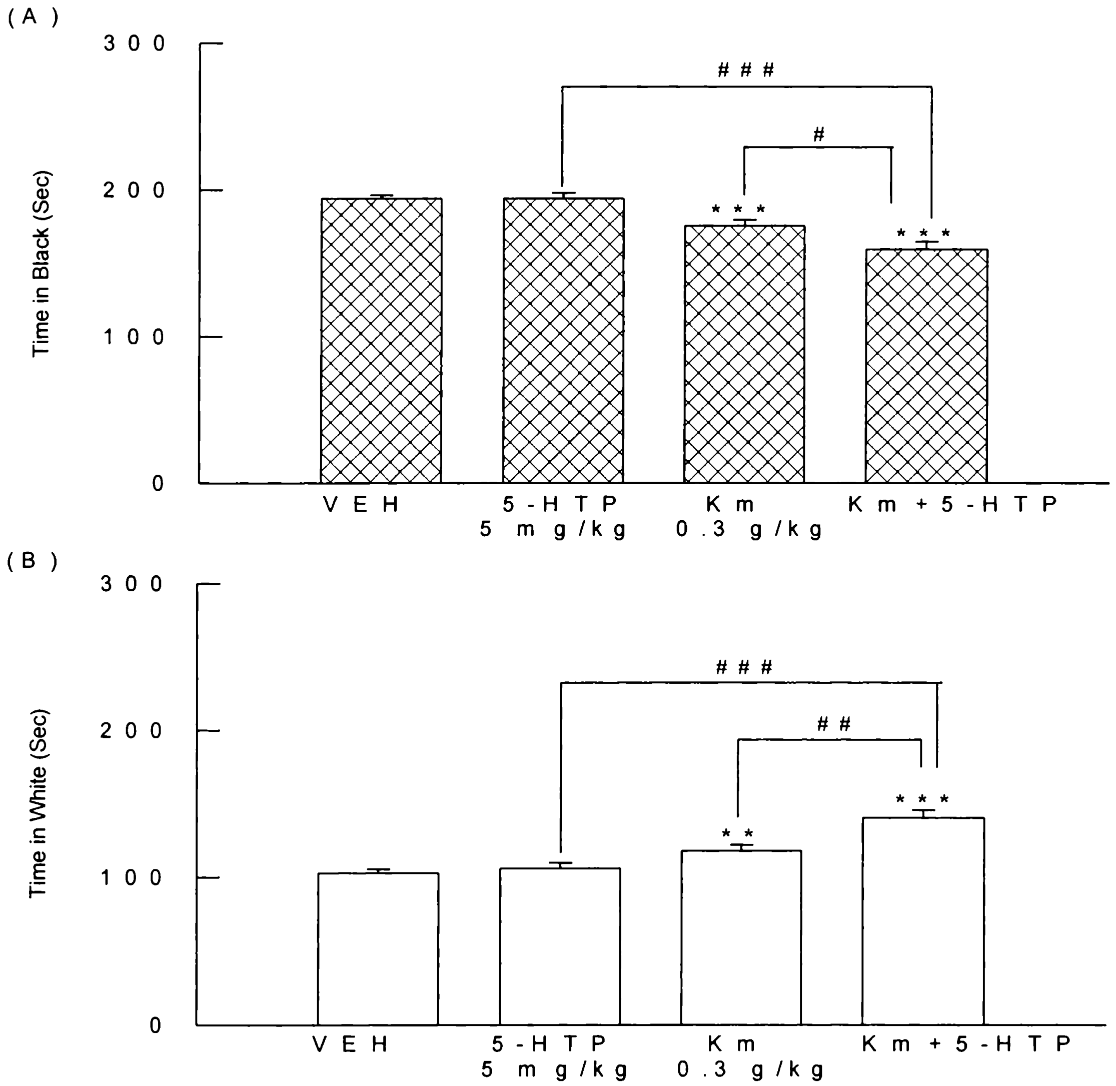

Fig. 10. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km, 0.3 g/kg) and 5-hydroxytryptophan (5-HTP, 5 mg/kg) in the black and white chambers during a 5-min test. (A) time spent on the black chamber, (B) time spent on the white chamber. Scores are means±SEM. * P < 0.05, ** P < 0.01, significantly different from animals treated with vehicle (VEH). # P < 0.05, ## P < 0.01, ### P < 0.001, compared with Km plus 5-HTP. (Mann-Whitney *U* test)

如 Fig. 11，甘麥大棗湯於 0.3 g/kg 劑量時，可減少小白鼠在黑室之滯留時間及增加小白鼠在白室之滯留時間；而 5-HT 之合成先驅物 5-HTP 於 50 mg/kg 劑量下，則可增加小白鼠在黑室之滯留時間及減少小白鼠在白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短 5-HTP 所增加之黑室滯留時間及延長 5-HTP 所減少之白室滯留時間。

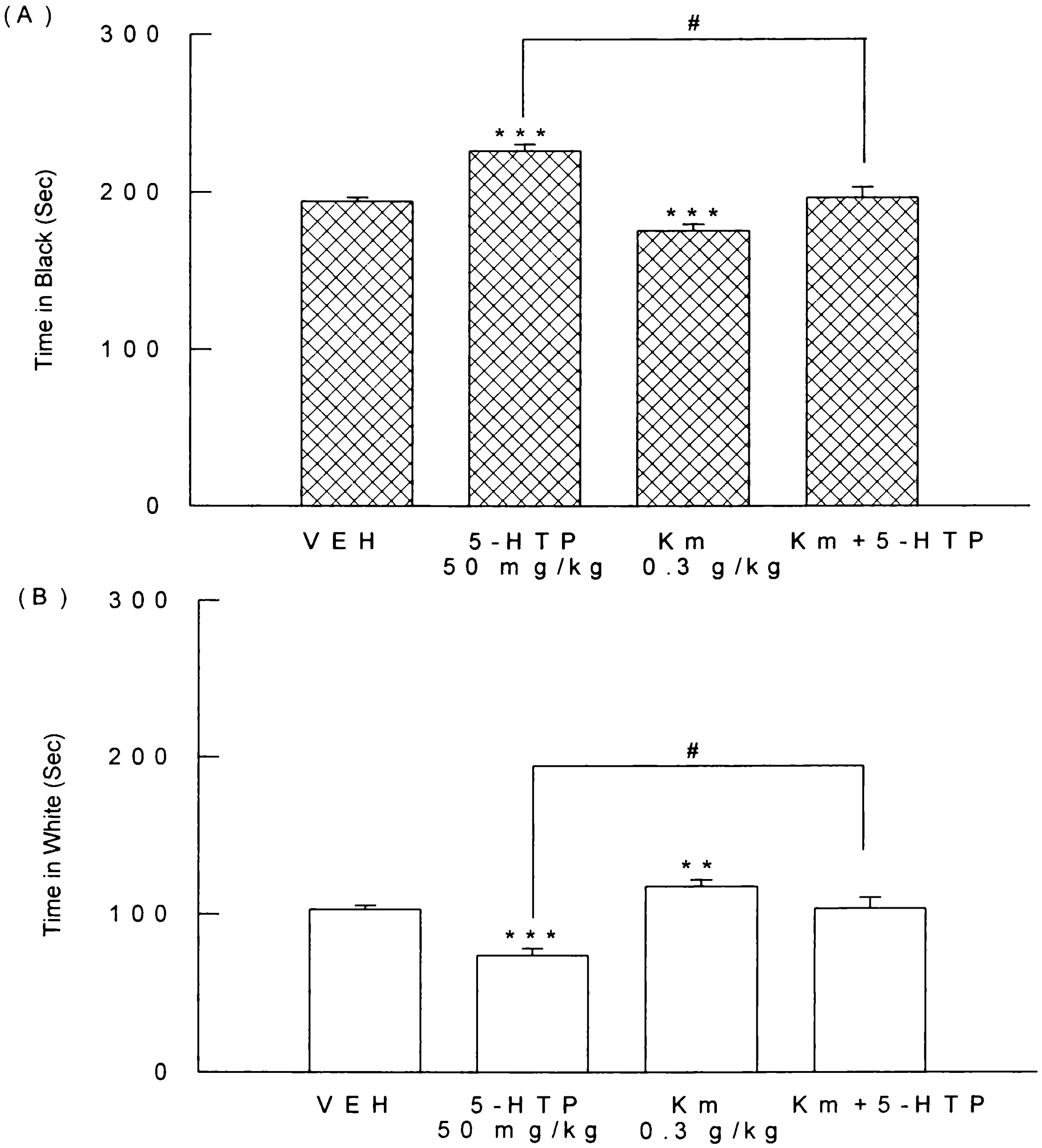

Fig. 11. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km, 0.3 g/kg) and 5-hydroxytryptophan (5-HTP, 50 mg/kg) in the black and white chambers during a 5-min test. (A) time spent on the black chamber, (B) time spent on the white chamber. Scores are means±SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from animals treated with vehicle (VEH). # $P < 0.05$, compared with Km plus 5-HTP. (Mann-Whitney *U* test)

如 Fig. 12，甘麥大棗湯於 0.3 g/kg 劑量時，可減少小白鼠在黑室之滯留時間及增加小白鼠在白室之滯留時間；而 5-HT 之合成抑制劑 PCPA 於 200 mg/kg 劑量下並不影響小白鼠在黑室之滯留時間及白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短黑室之滯留時間及延長白室之滯留時間。

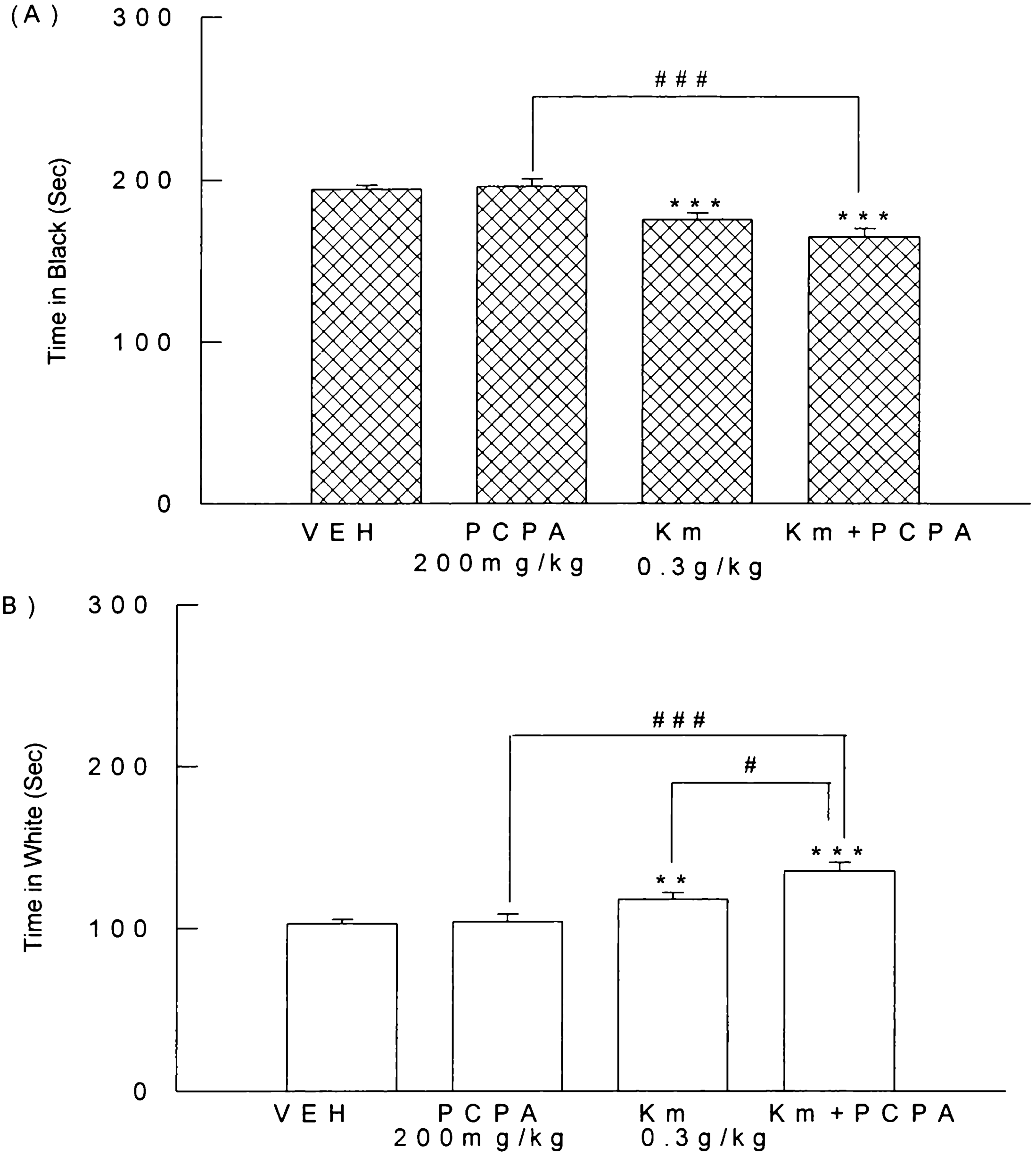

Fig. 12. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km, 0.3 g/kg) and *p*-chlorophenylalanine (PCPA, 200 mg/kg) in the black and white chambers during a 5-min test. (A) time spent on the black chamber, (B) time spent on the white chamber. Scores are means±SEM. * P < 0.05, ** P < 0.01, significantly different from animals treated with vehicle (VEH). # P < 0.05, ### P < 0.001, compared with Km plus PCPA. (Mann-Whitney *U* test)

如 Fig. 13，甘麥大棗湯於 0.3 g/kg 劑量時，可減少小白鼠在黑室之滯留時間及增加小白鼠在白室之滯留時間；而 5-HT_{1A} 之致效劑 8-OH-DPAT 於 0.1 mg/kg 劑量下並不影響小白鼠在黑室之滯留時間及白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短黑室之滯留時間及延長白室之滯留時間。

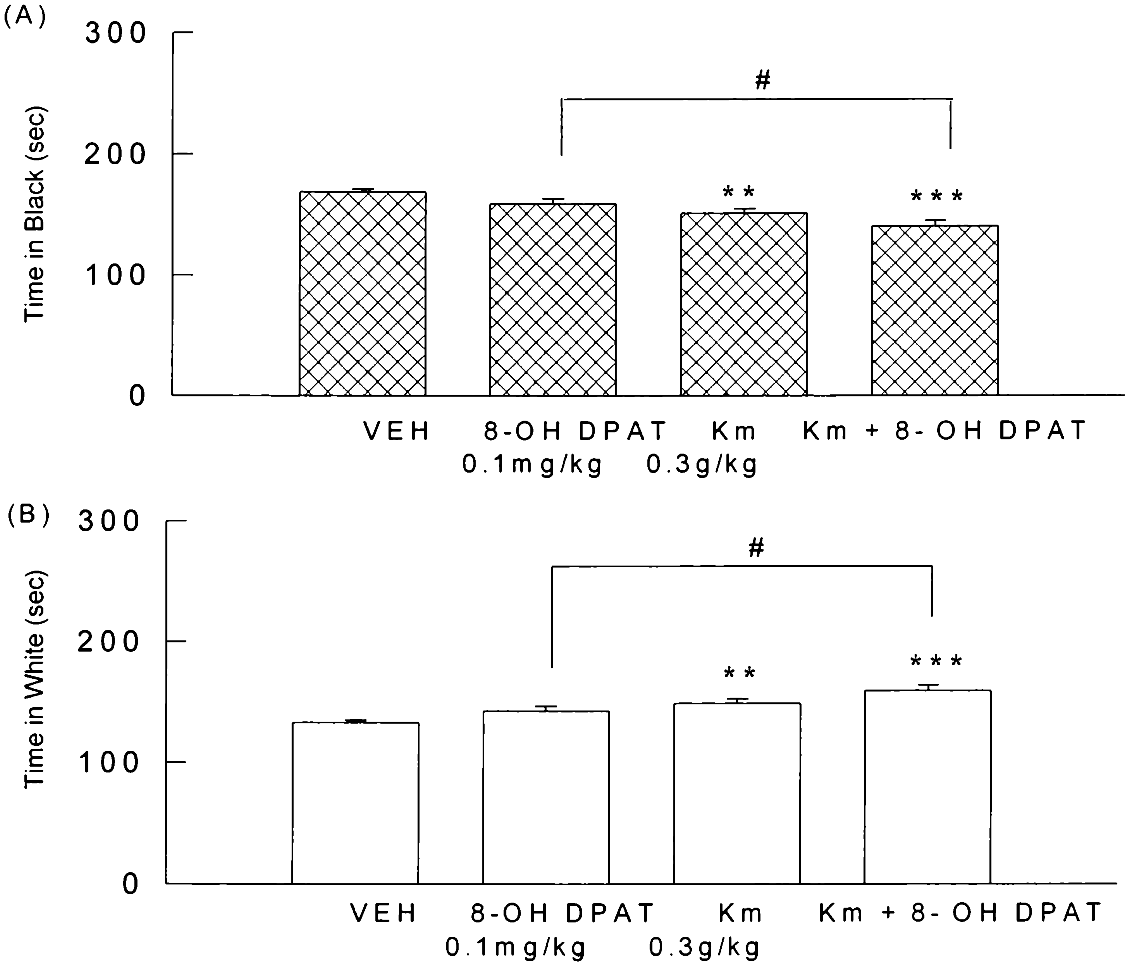

Fig. 13. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km, 0.3 g/kg) and 8-OH-DPAT (0.1 mg/kg) in the black and white chambers during a 5-min test. (A) time spent on the black chamber, (B) time spent on the white chamber. Scores are means±SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from animals treated with vehicle (VEH). ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, compared with Km plus 8-OH-DPAT. (Mann-Whitney *U* test)

如 Fig. 14，甘麥大棗湯於 0.3 g/kg 劑量時，可減少小白鼠在黑室之滯留時間及增加小白鼠在白室之滯留時間；而 5-HT_2 之拮抗劑 ritanserin 於 0.01 mg/kg 劑量下並不影響小白鼠在黑室之滯留時間及白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短黑室之滯留時間及延長白室之滯留時間。

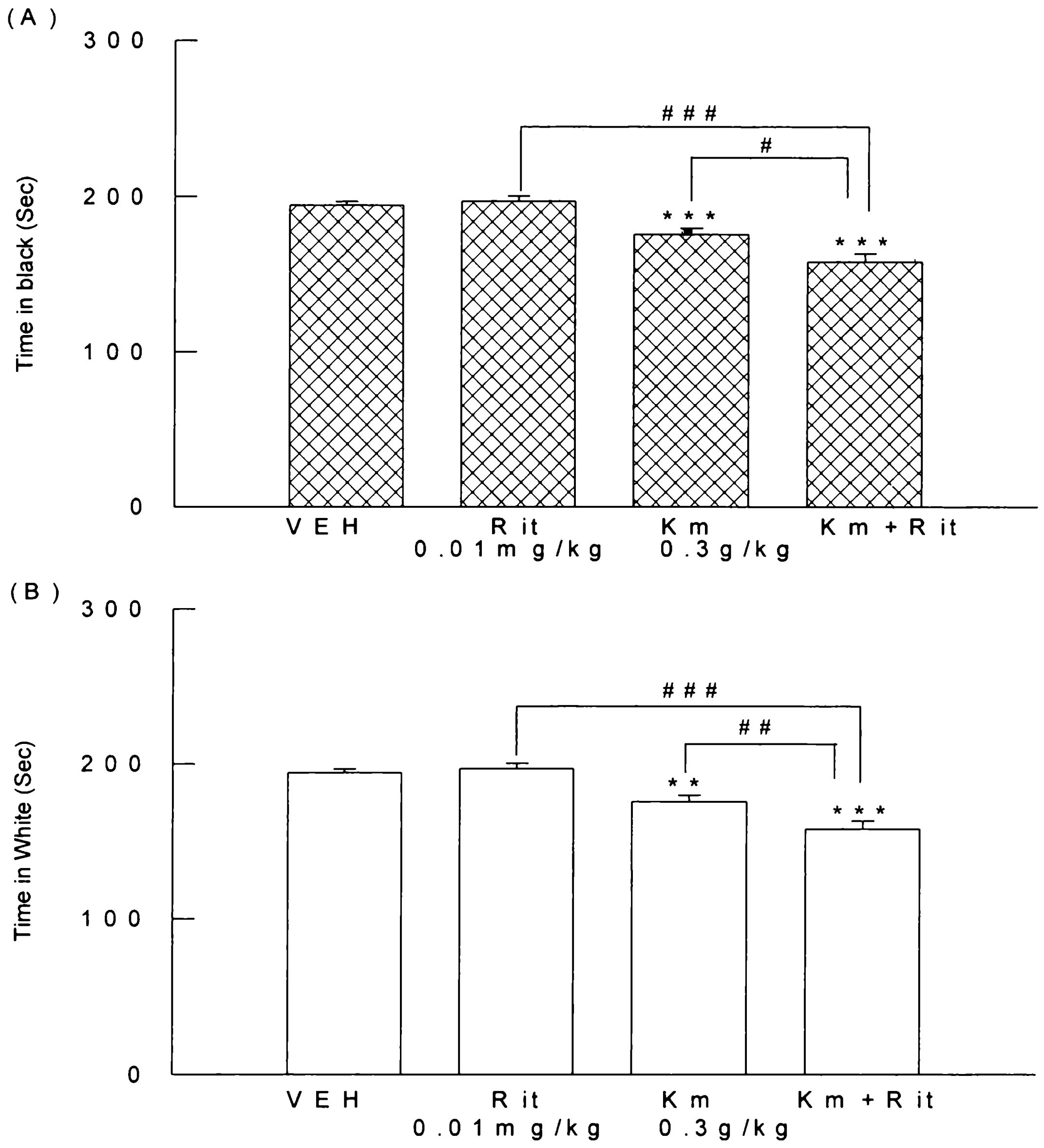

Fig. 14. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km, 0.3 g/kg) and ritanserin (Rit, 0.01 mg/kg) in the black and white chambers during a 5-min test. (A) time spent on the black chamber, (B) time spent on the white chamber. Scores are means±SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from animals treated with vehicle (VEH). # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, compared with Km plus Rit. (Mann-Whitney *U* test)

七、對小白鼠腦內單胺及其代謝物濃度之影響

Table 2. Effects of Kan-Mai-Ta-Taso-Tang (Km) on monoamines and metabolites in mice' brain stem.

	單胺濃度			代謝物濃度		
	5-HT	DA	NE	5-HIAA	HVA	VMA
VEH	76.97±11.7	232.62±7.1	271.81±25.43	63.19±2.27	118.16±9.51	68.63±4.96
Km 0.3	40.9±5.62*	184.43±14.18*	147.97±17.68**	149.54±12.18***	165.93±9.15*	185.78±4.13***
Km 1.0	93.45±15.62	144.93±16.99**	130.04±14.05***	123.98±11.49**	124.48±5.48	89.79±4.7*

The results are expressed as mean±S.E.M for 6 groups (5 mice per group). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with the control group (Student's t-test).

肆、討論

甘麥大棗湯為中醫臨床上最常用於治療臟燥之方劑，首載於《金匱要略・婦人雜病脈症并論》，由炙甘草、浮小麥及大棗等三味藥所組成，主治「婦人臟燥。症見精神恍惚，悲傷欲哭，不能自主，呵欠頻發或失眠盜汗」[5]；現今藥理學研究證實具鎮靜及抗痙攣作用[9-10]。比較現今之抗焦慮藥物多具鎮靜、抗痙攣及抗焦慮之作用，惟甘麥大棗湯證實具鎮靜及抗痙攣作用，但甘麥大棗湯之抗焦慮作用則仍有待探討；因此，本研究即採雙向主動迴避式反應、黑白室及上升性十字型迷宮之焦慮模式，來探討甘麥大棗湯之藥效，並以diazepam及buspirone為正對照組。

首先，在雙向主動迴避反應誘發大白鼠焦慮之實驗中，甘麥大棗湯於0.03～1.0 g/kg劑量下，可減少大白鼠之非條件反應次數及試驗間之誤動作次數，而對條件反應次數則不影響；由對條件反應次數不影響之結果，可知本實驗所設計之連續20次測定並不包含學習記憶之行為，此結果與Prunell等之研究報告相同[12]，更顯示甘麥大棗湯應具有抗焦慮之作用。但因雙向主動迴避反應係以聲光暨電誘發焦慮，因此為排除藥物對大白鼠電痛閾值之影響，而進行對大白鼠電痛閾值影響之實驗，發現甘麥大棗湯於任何實驗劑量下並不具鎮痛之活性；顯示甘麥大棗湯之抗焦慮作用應無鎮痛因素之影響。

其次，在黑白室誘發小白鼠焦慮模式之實驗中，甘麥大棗湯可增加小白鼠於白室之滯留時間，並減少小白鼠於黑室之滯留時間；最後，在上升型十字形迷宮誘發焦慮模式之實驗中，甘麥大棗湯僅可增加小白鼠在開放臂之滯留時間百分率、開放臂進入次數百分率及減少小白鼠在封閉臂之滯留時間百分率，但對封閉臂之進入次數則不影響。而正對照組中，buspirone可增加小白鼠在開放臂之滯留時間百分率、開放臂進入次數百分率及減少小白鼠在封閉臂之滯留時間百分率，雖buspirone之作用劑量於研究報告中均不一致，然在Collinson及Dawson則指出於0.3 mg/kg時並不影響小白鼠在上升型十字形迷宮之操作情形[21]，惟劑量之使用上雖與Cole及Rodgers相同，然作用性質上則略有差異[22]，此仍待進一步之研究；但diazepam則需於0.5 mg/kg之劑量下始可增加小白鼠在開放臂之滯留時間百分率、開放臂之進入次數及減少小白鼠在封閉臂之滯留時間百分率、封閉臂之進入次數，此結果與Artaiz等之研究報告相同[23]。另因黑白室誘發小白鼠焦慮模式

及上升型十字形迷宮誘發焦慮模式均牽涉動物之運動行為，故進行動物之運動活性測定，發現甘麥大棗湯於0.03～1.0 g/kg之劑量下，並不影響小鼠運動量之作用。由上述結果顯示，甘麥大棗湯於0.3 g/kg劑量下具抗焦慮之活性，且與鎮痛、鎮靜之活性無關。另其作用型態，據Paslawski等之研究報告上升型十字形迷宮對benzodiazepine類之抗焦慮劑較為敏感，而三環類抗憂鬱劑或5-HT類抗焦慮劑則需於較大劑量下對腦內GABA濃度具影響時始具作用[24]；因此甘麥大棗湯應係類似三環類抗憂鬱劑或5-HT類抗焦慮劑之作用，於0.3 g/kg之抗焦慮劑量下可能與5-HT系統較有關係，而在1.0 g/kg之劑量下，則可能亦與GABA系統有關；然此推論仍待進一步之機轉研究。

為確認甘麥大棗湯之抗焦慮作用機轉，本研究進一步探討改變 5-HT 神經系統活性之藥物對甘麥大棗湯在黑白室誘發小白鼠焦慮模式之抗焦慮作用的影響。5-HTP 為 5-HT 合成之先驅物質[25]，其對動物焦慮模式之影響呈雙向性，低劑量（> 5 mg/kg）時為抗焦慮作用，而高劑量（25 mg/kg）時則為誘發焦慮之作用[15]。當本研究使用低劑量（5 mg/kg）之 5-HTP 與作用劑量（0.3 g/kg）之甘麥大棗湯併用時，雖 5-HTP 於劑量下並不影響小白鼠在黑室之滯留時間及白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短黑室之滯留時間及延長白室之滯留時間。而當使用高劑量（50 mg/kg）之 5-HTP 與作用劑量（0.3 g/kg）之甘麥大棗湯併用時，雖 5-HTP 可增加小白鼠在黑室之滯留時間及減少小白鼠在白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短 5-HTP 所增加之黑室滯留時間及延長 5-HTP 所減少之白室滯留時間。其次，PCPA 為 5-HT 之合成抑制劑[26]，於 200 mg/kg 劑量下並不影響小白鼠在黑室之滯留時間及白室之滯留時間[15]，但併用甘麥大棗湯後則可縮短黑室之滯留時間及延長白室之滯留時間。顯示甘麥大棗湯之抗焦慮作用應與 5-HT 神經系統有關。據 Berendsen 及 Broekkamp、Sanchez 之研究 5-HT 各類型接受器在動物焦慮研究模式中焦慮或抗焦慮之行為均牽涉其中[15, 27]；因此，進一步探討 5-HT 接受器在甘麥大棗湯抗焦慮作用所扮演之角色。8-OH-DPAT 為 5-HT_{1A} 之致效劑，在本研究使用之 0.1 mg/kg 劑量下並不影響小白鼠在黑室之滯留時間及白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短黑室之滯留時間及延長白室之滯留時間。而 ritanserin 為 5-HT_2 之拮抗劑，於 0.01 mg/kg 劑量下並不影響小白鼠在黑室之滯留時間及白室之滯留時間，但併用甘麥大棗湯後則可縮短黑室之滯留時間及延長白室之滯留時間。由上述結果顯示，甘麥大棗湯之抗焦慮作用應與拮抗 5-HT_{1A} 及 5-HT_2 接受器之活性有關。最後，我們進一步以生化方法（高速

液相層析暨電化學方法）測定腦內單胺之濃度，發現甘麥大棗湯在 0.3 g/kg 時可增加腦幹內 VMA、HVA、5-HIAA 之濃度，並減少 DA、NE、5-HT 之濃度，因此甘麥大棗湯之抗焦慮作用應與增加腦內 5-HT 之 turnover rate 有關。而在 1.0 g/kg 時，亦可增加腦幹內 VMA、HVA 之濃度，並減少 DA、NE 之濃度，但對 5-HIAA 及 5-HT 之濃度並無明顯影響，此結果顯示甘麥大棗湯在 1.0 g/kg 之鎮靜作用可能與 5-HT 系統有關，此與柯存財之研究結果相同[28]。

綜合上述之結果，甘麥大棗湯於小劑量（0.3 g/kg）下具抗焦慮作用，對各類實驗性動物之焦慮模式均有作用，惟其作用與 buspirone 較為相似，其作用機轉與增加腦內 5-HT 之 turnover rate 有關，並與降低 5-HT_{1A} 及 5-HT_2 接受器之活性亦有關；而較高劑量（1.0 g/kg）之抗焦慮作用，則與 diazepam 較為相似；至於，GABA 神經系統在甘麥大棗湯抗焦慮及鎮靜作用則尚待進一步之研究。

伍、結論與建議

一、甘麥大棗湯可減少大白鼠在雙向主動迴避反應之非條件反應次數及誤動作次數，而對條件反應次數則不影響；顯示本實驗設計下，甘麥大棗湯具抗焦慮作用而不影響學習記憶之能力。且於進一步之電痛閾值測定中，甘麥大棗湯並無鎮痛作用。顯示甘麥大棗湯之抗焦慮作用與其他相關之行為無關。

二、甘麥大棗湯可增加小白鼠於黑白室模式下在白室之滯留時間，並減少在黑室之滯留時間。

三、甘麥大棗湯對上升型十字形迷宮之焦慮模式，可增加小白鼠在開放臂之滯留時間百分率及減少小白鼠在封閉臂之滯留時間百分率，但對開放臂及封閉臂之進入次數則不影響。

四、甘麥大棗湯於0.3 g/kg劑量下具抗焦慮之活性，且此劑量下之作用與鎮痛、鎮靜之活性無關。甘麥大棗湯於0.3 g/kg劑量下，抗焦慮作用型態與buspirone相似；而於1.0 g/kg劑量下，抗焦慮作用型態則與diazepam相似。

五、在黑白室之動物焦慮實驗模式下，甘麥大棗湯可增強低劑量下5-HTP及PCPA之作用，並拮抗高劑量下5-HTP誘發焦慮之作用；進一步，甘麥大棗湯可增強8-OH-DPAT及ritanserin之作用。

六、甘麥大棗湯在 0.3 g/kg 時可增加腦幹內 5-HIAA 之濃度，並減少

5-HT 之濃度，因此甘麥大棗湯之抗焦慮作用應與增加腦內 5-HT 之 turnover rate 有關。

七、甘麥大棗湯於小劑量（0.3 g/kg）下具抗焦慮作用，對各類實驗性動物之焦慮模式均有作用，惟其作用與 buspirone 較為相似，其作用機轉與增加腦內 5-HT 之 turnover rate 有關，並與降低 5-HT_{1A} 及 5-HT_2 接受器之活性亦有關。

陸、參考文獻

1. Robert B. Graham: Physiological psychology. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, A Division of Wadsworth, Inc. 1990;517-24.
2. Meller E, Goldstein M, Bohmaker K: Receptor reserve for 5-hydroxytryptamine$_{1A}$-mediated inhibition of serotonin synthesis: Possible relationship to anxiolytic properties of 5-hydroxytryptamine$_{1A}$ agonists. Mole. Pharmacol. 1990;37:231-7.
3. Carli M, Prontera C, Samanin R: Evidence that central 5-hydroxytryptamine neurons are involved in anxiolytic activity of buspirone. Br. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1989;96:829-36.
4. Rang HP, Dale MM: Anxiolytic and hypnotic drugs. In: Pharmacology, Churchill Livingstone Inc., New York,1991,628-41.
5. 漢‧張仲景著：仲景全書卷六，金匱要略，婦人雜病脈證吒治第二十二，集文書局，台南市 1986;418-9。
6. 清‧吳儀洛著：成方切用，旋風出版社，台北縣 1986;304-5。
7. 俞荅P：趙炯恒應用甘麥大棗湯的經驗，浙江中醫學院學報 1994;18(3):29-30。
8. 矢數道明撰，吳著：漢方處方解說，正言出版社，台北市 1986;229-31。
9. 呂佳源，宋霄宏，柴欽民：複方甘麥大棗湯的藥理研究，浙江中醫學院學報 1992;16(6):46-8.
10. 宋霄宏，呂佳源，昝日增：甘麥大棗湯升白細胞作用的實驗觀察，浙江中醫學院學報 1990;14(5):27-8.
11. Litchfield JT, Wilcoxon F: A simplified method of elevating dose effect experiment. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1949;96:99-133.
12. Prunell M, Escorihuela RM, Fernandez-Teruel A, Nunez JF, Tobena A:

Differential interactions between ethanol and Ro 15-4513 on two anxiety tests in rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 1994;47:147-51.
13. Young R, Johnson DN: A fully automated light/dark apparatus useful for comparing anxiolytic agents. Pharmacol. Biochem. Behav. 1991;40:739-743.
14. Pellow S, File SE: Anxiolytic and axiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. Pharmacol. Biochem. Behav. 1986;24:525-9.
15. Sanchez C: Serotonergic mechanisms involved in the exploratory behaviour of mice in a fully automated two-compartment black and white test box. Pharmacol. Toxicol. 1995;77:71-78.
16. Moser PC: An evaluation of the elevated plus-maze test using the novel anxiolytic buspirone. Psychopharmacology 1989;99:48-53.
17. Costall B, Naylor RJ: Behavioural interactions between 5-hydroxytryptophan, neuroleptic agents and 5-HT receptor antagonists in modifying rodent responding to aversive situations. Br. J. Pharmacol. 1995;116:2989-2999.
18. Ichihara K, Nabeshima T and Kameyama T: Opposite effects induced by low and high doses of apomorphine on single-trial passive avoidance learning in mice. Pharmacol. Biochem. Behav. 1988;30:107-13.
19. Sanberg PR, Hagenmeyer SH and Henault MA: Automated measurement of multivariate locomotor behavior in rodents. Neurobehav. Toxicol. Teratol. 1985;7:87-94.
20. Hsieh MT, Su SH, Tsai HY, Peng WH, Hsieh CC, Chen CF: Effects of palmatine on motor activity and the concentration of central monoamines and its metabolites in rats. Jpn. J. Pharmacol. 1993;61:1-5.
21. Collinson N, Dawson GR: On the elevated plus-maze the anxiolytic-like effects of 5-HT_{1A} agonist, 8-OH-DPAT, but not the axiogenic-like effects of the 5-HT_{1A} partial agonist, buspirone, are blocked by the 5-HT_{1A} antagonist, WAY 100635. Psychopharmacology 1997;132:35-43.
22. Cole JC, Rodgers RJ: Ethological evaluation of the effects of acute and chronic buspirone treatment in the murine elevated plus-maze test: comparison with haloperidol. Psychopharmacology 1994;114:288-296.

23. Artaiz J, Romero G, Zazpe A, Monge A, Caldero JM, Roca J, Lasheras B, Del Rio J: The pharmacology of VA21B7: an atypical 5-HT_3 receptor antagonist with anxiolytic-like properties in animal models. Psychopharmacology 1995;117:137-148.

24. Paslawski T, Treit D, Baker GB, George M, Coutts RT: The antidepressant drug phenelzine produces antianxiety effects in the plus-maze and increases in rat brain GABA. Psychopharmacology 1996;127:19-24.

25. Everett GM: Effect of 5-hydroxytryptophan on brain levels of dopamine, norepinephrine and serotonin in mice. Adv. Biochem. Psychopharmacol. 1974;10:261-262.

26. Koe BK, Weissman A: *p*-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1966;154:499-516.

27. Berendsen HHG, Broekkamp CLE: Behavioural evidence for functional interactions between 5-HT-recepotr subtypes in rats and mice. Br J Pharmacol 1990;101:667-673.

28. 柯存財：甘麥大棗湯對於內源性憂鬱症動物模型療效之研究，中國醫藥學院中國醫學研究所碩士論文 1996。